

#3

5005.1013



**UNITED STATES PATENT & TRADEMARK OFFICE**

Re: Application of: **Juergen HOFFMANN**  
Serial No.: To Be Assigned  
Filed: Herewith  
For: **SCANNING MICROSCOPE**

**LETTER RE: PRIORITY**

Assistant Commissioner for Patents  
P.O. BOX 2327; Arlington, VA 22202

December 17, 2001

Sir:

Applicant hereby claims priority of German Application Serial No. DE 100 63 276.9-42,  
filed December 19, 2000.

Respectfully submitted,  
DAVIDSON, DAVIDSON & KAPPEL, LLC

By William C. Gehris  
William C. Gehris  
Reg. No. 38,156

Davidson, Davidson & Kappel, LLC  
485 Seventh Avenue, 14<sup>th</sup> Floor  
New York, New York 10018  
(212) 736-1940



## Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

**Aktenzeichen:** 100 63 276.9  
**Anmeldetag:** 19. Dezember 2000  
**Anmelder/Inhaber:** Leica Microsystems Heidelberg GmbH,  
Mannheim/DE  
**Bezeichnung:** Scanmikroskop  
**IPC:** G 02 B 21/00

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 02. November 2001  
**Deutsches Patent- und Markenamt**  
Der Präsident  
Im Auftrag

Weihmayr

### Scanmikroskop

Die Erfindung betrifft ein Scanmikroskop mit einem Beleuchtungsstrahlengang, einer Mikroskopoptik und mit mindestens einer  
5 Lichtquelle, die einen Anregungslichtstrahl einer ersten Wellenlänge und einen Emissionslichtstrahl einer zweiten Wellenlänge erzeugt, wobei der Anregungslichtstrahl auf einen ersten Fokusbereich in einer ersten Ebene und der Emissionslichtstrahl auf einen zweiten Fokusbereich in einer zweiten Ebene in einer Probe fokussiert sind und der Anregungslichtstrahl die Probe  
10 im ersten Fokusbereich optisch anregt und der Emissionslichtstrahl im zweiten Fokusbereich stimulierte Emission erzeugt und der erste und der zweite Fokusbereich sich zumindest teilweise überlappen.

In der Scanmikroskopie wird eine Probe mit einem Lichtstrahl beleuchtet, um das von der Probe emittierte Reflexions- oder Fluoreszenzlicht zu beobachten.  
15 Der Fokus des Beleuchtungslichtstrahles wird mit Hilfe einer steuerbaren Strahlablenkeinrichtung, im Allgemeinen durch Verkippen zweier Spiegel, in einer Objektebene bewegt, wobei die Ablenkachsen meist senkrecht aufeinander stehen, so daß ein Spiegel in x-, der andere in y-Richtung ablenkt. Die Verkipfung der Spiegel wird beispielsweise mit Hilfe von  
20 Galvanometer-Stellelementen bewerkstelligt. Die Leistung des vom Objekt kommenden Lichtes wird in Abhängigkeit von der Position des Abtaststrahles gemessen. Üblicherweise werden die Stellelemente mit Sensoren zur Ermittlung der aktuellen Spiegelstellung ausgerüstet.

Speziell in der konfokalen Scanmikroskopie wird ein Objekt mit dem Fokus  
25 eines Lichtstrahles in drei Dimensionen abgetastet.

Ein konfokales Rastermikroskop umfasst im allgemeinen eine Lichtquelle, eine Fokussieroptik, mit der das Licht der Quelle auf eine Lochblende – die sog. Anregungsblende – fokussiert wird, einen Strahlteiler, eine Strahlableitenrichtung zur Strahlsteuerung, eine Mikroskopoptik, eine

5 Detektionsblende und die Detektoren zum Nachweis des Detektions- bzw. Fluoreszenzlichtes. Das Beleuchtungslicht wird über einen Strahlteiler eingekoppelt. Das vom Objekt kommende Fluoreszenz- oder Reflexionslicht gelangt über die Strahlableitenrichtung zurück zum Strahlteiler, passiert diesen, um anschließend auf die Detektionsblende fokussiert zu werden,

10 hinter der sich die Detektoren befinden. Detektionslicht, das nicht direkt aus der Fokusregion stammt, nimmt einen anderen Lichtweg und passiert die Detektionsblende nicht, so daß man eine Punktinformation erhält, die durch sequentielles Abtasten des Objekts zu einem dreidimensionalen Bild führt. Meist wird ein dreidimensionales Bild durch schichtweise Bilddatennahme

15 erzielt. Anstelle der Führung des Beleuchtungslichtes mit einer Strahlableitenrichtung über bzw. durch das Objekt, gibt es auch die Möglichkeit bei raumfestem Beleuchtungslichtstrahl das Objekt zu bewegen. Beide Scanverfahren, Strahlscanning und Objektscanning, sind bekannt und verbreitet.

20 Die Leistung des vom Objekt kommenden Lichtes wird in festen Zeitabständen während des Abtastvorganges gemessen und so Rasterpunkt für Rasterpunkt abgetastet. Der Messwert muss eindeutig der dazugehörigen Scanposition zugeordnet werden, um aus den Messdaten ein Bild erzeugen zu können. Zweckmäßiger Weise werden hierfür die Zustandsdaten der

25 Verstellelemente der Strahlableitenrichtung laufend mitgemessen oder, was allerdings weniger genau ist, direkt die Steuersolldaten der Strahlableitenrichtung verwendet.

Es ist auch möglich in einer Durchlichtanordnung beispielsweise das Fluoreszenzlicht oder die Transmission des Anregungslichtes kondensorseitig

30 zu detektieren. Der Detektionslichtstrahl gelangt dann nicht über die Scanspiegel zum Detektor (Non descann Anordnung). Für die Detektion des Fluoreszenzlichtes wäre in der Durchlichtanordnung eine kondensorseitige Detektionsblende nötig, um, wie in der beschriebenen Descann-Anordnung,

eine dreidimensionale Auflösung zu erzielen. Im Falle der Zweiphotonenanregung kann jedoch auf eine kondensorseitige Detektionsblende verzichtet werden, da die Anregungswahrscheinlichkeit vom Quadrat der Photonendichte abhängt ( $\sim \text{Intensität}^2$ ), die naturgemäß im Fokus viel höher ist als in den Nachbarregionen. Das zu detektierende Fluoreszenzlicht stammt daher mit großer Wahrscheinlichkeit zum aller größten Teil aus der Fokusregion, was eine weitere Differenzierung von Fluoreszenzphotonen aus dem Fokusbereich von Fluoreszenzphotonen aus den Nachbarbereichen mit einer Blendenanordnung überflüssig macht.

10

Das Auflösungsvermögen eines konfokalen Rastermikroskops ist unter anderem durch die Intensitätsverteilung und die räumliche Ausdehnung des Fokusbereich des Beleuchtungslichtstrahles gegeben. Eine Anordnung zur Steigerung des Auflösungsvermögens für Fluoreszenzanwendungen ist aus der PCT/DE/95/00124 bekannt. Diese Anordnung umfasst eine Lichtquelle, die einen Anregungslichtstrahl einer ersten Wellenlänge und einen Emissionslichtstrahl einer zweiten Wellenlänge erzeugt, wobei der Anregungslichtstrahl auf einen ersten Fokusbereich und der Emissionslichtstrahl auf einen zweiten Fokusbereich in einer Probe, der teilweise mit dem ersten Fokusbereich überlappt, fokussiert sind. Der Anregungslichtstrahl regt die Probe im ersten Fokusbereich optisch an, während der Emissionslichtstrahl im zweiten Fokusbereich stimulierte Emission erzeugt. Detektiert wird dann nur das spontan emittierte Licht aus dem Teil des ersten Fokusbereichs, in dem keine stimulierte Emission erzeugt wurde, so daß insgesamt eine Auflösungsverbesserung erreicht wird. Für dieses Verfahren hat sich die Bezeichnung STED (Stimulated Emission Depletion) eingebürgert.

25

Zwischenzeitlich wurde die STED-Technologie dahingehend weiterentwickelt, daß sowohl lateral, als axial eine Auflösungssteigerung erreicht werden kann, indem der Fokusbereich des Emissionslichtstrahles eine Intensitätsverteilung aufweist, die im inneren verschwindet. Anschaulich ausgedrückt ist der Fokusbereich innen gewissermaßen hohl. Eine solche Intensitätsverteilung kann beispielsweise mit Hilfe einer in einer Fourierebene zur Fokusebene des

30

Emissionslichtstrahles angebrachten  $\lambda/2$ -Platte, die in ihrem Durchmesser kleiner als der Strahldurchmesser ist und folglich überleuchtet wird, erreicht werden. Der Fokusbereich des Emissionslichtstrahles muss mit dem Fokusbereich des Anregungslichtstrahles zur Deckung gebracht werden. In  
5 einer solchen Konfiguration wird dann nur noch spontan emittiertes Licht aus dem Bereich der verschwindenden Intensität des Fokusbereichs des Emissionslichtstrahles detektiert. Theoretisch werden mit solchen Anordnungen Auflösungen von weit unter 100 nm erzielt.

Von entscheidender Wichtigkeit ist, daß die Fokusbereiche des  
10 Emissionslichtstrahles und Anregungslichtstrahles geeignet zur Überlappung gebracht werden. Darüber hinaus muss diese Überlappung auch beim Scannen der Probe erhalten bleiben. Bei der Überlappung handelt es sich um eine räumliche Beziehung der beiden Lichtstrahlen zueinander, die durch den Scanvorgang nicht geändert wird.

Selbst hochkorrigierte optische High-End Elemente weisen Restaberrationen auf, die in der konventionellen Mikroskopie meist keine Rolle spielen, die jedoch in dem hier betrachteten Auflösungsbereich stark zum Tragen kommen. Insbesondere durch die unterschiedlichen Wellenlängen von Anregungslichtstrahl und Emissionslichtstrahl wird durch die chromatischen  
20 Restaberrationen zu gravierenden Fehlern. Beispielsweise beträgt allein der Farblängsfehler von High-End-Mikroskopobjektiven bereits ca. 150 nm und liegt damit oberhalb des theoretisch mit STED erreichbaren Auflösungsvermögens. Bei einem strahlscannenden System kommen neben den axialen Aberrationen noch die lateralen Aberrationen hinzu, so daß  
25 während der Scanbewegung der Überlappungsbereich sowohl axial, als auch lateral variiert.

Der Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, ein Scanmikroskop mit derart ausgestalteten optischen Mitteln zu schaffen, dass eine für die STED-Mikroskopie erforderliche Auflösung erzielbar ist.

30 Diese Aufgabe wird gelöst durch ein Scanmikroskop, das dadurch gekennzeichnet ist, dass die optischen Eigenschaften der im Beleuchtungsstrahlengang angeordneten Komponenten derart aufeinander

abgestimmt sind, dass optische Aberrationen derart korrigiert sind, dass unabhängig von der Scanbewegung die Fokusbereiche zueinander ortsfest bleiben.

Die Erfindung hat den Vorteil, daß das theoretische Auflösungsvermögen der  
5 STED-Technologie sowohl in objektscannenden, als auch in  
strahlscannenden Systemen erreicht wird. Erfindungsgemäß sind  
insbesondere chromatische Aberrationen, wie Farblängsfehler,  
Farbvergrößerungsfehler oder Farbquerfehler, korrigiert. Eine solche Korrektur  
kann in besonders vorteilhafter Weise durch zusätzliche Optiken in den  
10 Teilstrahlengängen des Beleuchtungslichtstrahlenganges in denen nur der  
Anregungslichtstrahl bzw. nur der Emissionslichtstrahl verlaufen, erzielt  
werden. In diesen Teilstrahlengängen lassen sich spezifisch die axialen und  
transversalen Strahleigenschaften beeinflussen. Ein verbleibender  
Farblängsfehler kann dann beispielsweise dadurch ausgeglichen werden, daß  
15 zwischen den Fokusbereichen und den Lichtquellen des  
Anregungslichtstrahles und des Emissionslichtstrahles unterschiedlich lange  
Lichtwege vorgesehen sind.

Auch monochromatische Aberrationen, wie sphärische Aberrationen, Koma,  
Astigmatismus, Bildfeldwölbung oder Verzeichnung ist es von besonders  
20 vorteilhaft, durch zusätzliche Optiken in den Teilstrahlengängen des  
Beleuchtungslichtstrahlenganges in denen nur der Anregungslichtstrahl bzw.  
nur der Emissionslichtstrahl verlaufen, zu korrigieren. Aber auch eine  
Korrektur in dem Teil des Beleuchtungslichtstrahlenganges in dem der  
Anregungslichtstrahl und der Emissionslichtstrahl gemeinsam verlaufen, ist  
25 günstig. Zur Korrektur können Linsen, Driftstrecken, aber auch adaptive  
Optiken oder aktive Optiken beinhalten. Denkbar ist beispielsweise ein  
deformierbarer Spiegel, beispielsweise ein Folienspiegel, oder ein Array von  
Mikrospiegeln, die ihre Wölbung oder ihre Stellung während der  
Scanbewegung verändern. Als adaptive Optik kann im  
30 Beleuchtungsstrahlengang auch ein LCD-Element, vorzugsweise in einer  
Fourierebene zur Fokusebene, vorgesehen sein, das die Phase des  
Anregungslichtstrahles oder des Emissionslichtstrahles oder Teilen des  
Anregungslichtstrahles oder des Emissionslichtstrahles verändert.

In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben. Dabei zeigen:

- Fig. 1 eine schematische Darstellung der Bahnen der Fokusbereiche von Anregungslichtstrahl und Emissionslichtstrahl bei einem herkömmlichen System.
- Fig. 2 ein erfindungsgemäßes Scanmikroskop und
- Fig. 3 ein erfindungsgemäßes Scanmikroskop in Non-Descananordnung und Mehrphotonenanregung.

**Fig. 1** zeigt schematisch den Verlauf der Bahnen der Fokusbereiche von Anregungslichtstrahl 1 und Emissionslichtstrahl 3 bei einem herkömmlichen strahlscannendem System. Der Anregungslichtstrahl 1 und der Emissionslichtstrahl 3 werden von der Mikroskopoptik 5 fokussiert. Der Fokusbereich des Anregungslichtstrahles 7 ist ausgezogen dargestellt. Er folgt beim Ausführen der Scanbewegung der Linie 11. Der Fokusbereich des Emissionslichtstrahles 9 ist gestrichelt dargestellt. Er folgt beim Ausführen der Scanbewegung der Linie 13. Der Überlappungsbereich 15 ändert sich beim ausführen der Scanbewegung. Selbst im Bereich der optischen Achse kommen die Fokusbereiche 7 und 9 aufgrund eines Farblängsfehlers nicht zur Deckung. Abseits der optischen Achse kommt zu dieser axialen Aberration noch der Farbquerfehler, sowie Verzeichnung und Bildwölbung hinzu, so daß die Fokusbereiche 7 und 9 sowohl lateral, als auch axial zueinander versetzt sind.

**Fig. 2** zeigt ein erfindungsgemäßes Scanmikroskop, das als konfokales Scanmikroskop ausgeführt ist. Die erste Lichtquelle 17, die als Pulslaser ausgeführt ist, erzeugt den Anregungslichtstrahl 19. Die zweite Lichtquelle 21, die ebenfalls ein Pulslaser ist, erzeugt den Emissionslichtstrahl 23. Der Anregungslichtstrahl 19 und der Emissionslichtstrahl werden mit dem dichroitischen Strahlvereiniger 25 vereinigt und gelangen über den dichroitischen Strahlteiler 27 zum Scanmodul 29, das einen kardanisch aufgehängten Scanspiegel 31 beinhaltet, der den Anregungslichtstrahl 19 und den Emissionslichtstrahl 23 über die Scanoptik 33, die Optik 35 und durch die Mikroskopoptik 37 hindurch über bzw. durch die Probe 39 führt. Die Probe 39



ist auf einem nicht gezeigten Mikrokoptisch angeordnet, der ein Abscannen in z-Richtung, in Richtung des Anregungslichtstrahls 19, ermöglicht. Die verschiedenen Fokusebenen der Probe 39 werden nacheinander durch den Anregungslichtstrahl 19 und den Emissionslichtstrahl 23 abgetastet. Der

5 Anregungslichtstrahl 19 und den Emissionslichtstrahl 23 bilden den Beleuchtungsstrahlengang 41, der als durchgezogene Linie dargestellt ist. Das von der Probe ausgehende Licht 43 gelangt durch die Mikroskopoptik 37 und über das Scanmodul 29 zum Strahlteiler 27, passiert diesen und trifft auf

10 Detektor 45, der als Photomultiplier ausgeführt ist. Das von der Probe 39 ausgehende Licht 43 ist als gestrichelte Linie dargestellt. Im Detektor 45 werden elektrische, zur Leistung des vom Objekt ausgehenden Lichtes 43 proportionale Detektionssignale erzeugt und an eine nicht gezeigte Verarbeitungseinheit weitergegeben. Vor dem Detektor ist ein Bandpassfilter 49 angeordnet, der Licht der Wellenlänge des Emissionslichtstrahles 23

15 ausblendet. Das bei einem konfokalen Scanmikroskop üblicherweise vorgesehene Beleuchtungspinhole 51 und das Detektionspinhole 47 sind der Vollständigkeit halber schematisch eingezeichnet. Weggelassen sind wegen der besseren Anschaulichkeit hingegen einige optische Elemente zur Führung und Formung der Lichtstrahlen. Diese sind einem auf diesem Gebiet tätigen

20 Fachmann hinlänglich bekannt. Um zu erreichen, daß die Fokusbereiche des Anregungslichtstrahles 19 und des Emissionslichtstrahles 23 auch während des Ausführens der Scanbewegung zueinander ortsfest bleiben, ist zwischen der ersten Lichtquelle 17 und dem dichroitischen Strahlvereiniger 25 eine Fokussieroptik vorgesehen. Zusammen mit den unterschiedlich langen

25 Lichtwegen von der ersten und zweiten Lichtquelle 17 und 21 zu dem dichroitischen Strahlvereiniger 25 wird ein Ausgleich des Farblängsfehlers aller übrigen Optiken des Beleuchtungsstrahlenganges 41 bewirkt. Zur Kompensation von lateralen Aberrationen ist zwischen der zweiten Lichtquelle 21 und dem dichroitischen Strahlteiler eine adaptive Optik 53, die als LCD-

30 Element ausgeführt ist, angeordnet. Diese wird in Abhängigkeit von der Stellung des Scanspiegels 31 in der Strahlableitenrichtung 29 gesteuert.

**Fig. 3** zeigt einerfindungsgemäßes Scanmikroskop in Non- Descananordnung mit Mehrphotonenanregung. Die Detektion findet bei dieser Ausführung

kondensorseitig statt. In dieser Anordnung kann auf das Beleuchtungspinhole und auf das Detektionspinhole verzichtet werden. Das von der Probe 39 ausgehende Licht 71 wird von der Kondensoroptik 55 fokussiert und über den Spiegel 73 zum Detektor 49 geleitet, der als Photomultiplier ausgeführt ist. Vor dem Detektor 49 ist ein Filter 75 angeordnet, der Licht der Wellenlänge des Anregungslichtstrahles und des Emissionslichtstrahles ausblendet. Der Anregungslichtstrahl 63 wird von der ersten Lichtquelle 61, die als Ti:Saphir-Pulslaser ausgeführt ist, erzeugt. Der Emissionslichtstrahl 69 wird von der zweiten Lichtquelle 67 erzeugt, die einen optisch parametrischen Oszillator beinhaltet. Nach der Vereinigung mit Hilfe des dichroitischen Strahlvereinigers 59 verläuft die Beleuchtung der Probe analog zu der in Fig. 2 beschriebenen Beleuchtung. Um zu erreichen, daß die Fokusbereiche des Anregungslichtstrahles 63 und des Emissionslichtstrahles 69 auch während des Ausführens der Scanbewegung zueinander ortsfest bleiben, ist zwischen der ersten Lichtquelle 61 und dem dichroitischen Strahlvereiniger 59 eine Linse 65 zur Defokussierung vorgesehen. Zusammen mit den unterschiedlich langen Lichtwegen von der ersten und zweiten Lichtquelle zu dem dichroitischen Strahlvereiniger 59 wird ein Ausgleich des Farblängsfehlers aller übrigen Optiken des Beleuchtungsstrahlenganges 41 bewirkt. Zur Kompensation von lateralen Aberrationen ist in dem Teil des Beleuchtungsstrahlenganges 41, den der Anregungslichtstrahl 63 und der Emissionslichtstrahl 69 gemeinsam durchlaufen eine adaptive Optik 57 angeordnet. Diese wird in Abhängigkeit von der Stellung des Scanspiegels 31 in der Strahlableitrichtung 29 gesteuert.

25 Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

**Bezugszeichenliste:**

	1	Anregungslichtstrahl
	3	Emissionslichtstrahl
5	5	Mikroskopoptik
	7	Fokusbereich des Anregungslichtstrahles
	9	Fokusbereich des Emissionslichtstrahles
	11	Linie
	13	Linie
10	15	Überlappungsbereich
	17	erste Lichtquelle
	19	Anregungslichtstrahl
	21	zweite Lichtquelle
	23	Emissionslichtstrahl
15	25	dichroitischer Strahlvereiniger
	27	dichroitischer Strahlteiler
	29	Scanmodul
	31	Scanspiegel
	33	Scanoptik
20	35	Optik
	37	Mikroskopoptik
	39	Probe
	41	Beleuchtungsstrahlengang
	43	ausgehendes Licht
25	45	Detektor
	47	Detektionspinhole

	49	Bandpassfilter
	51	Beleuchtungspinhole
	53	adaptive Optik
	55	Kondensoroptik
5	57	adaptive Optik
	59	dichroitischer Strahlvereiniger
	61	erste Lichtquelle
	63	Anregungslichtstrahl
	65	Linse
10	67	zweite Lichtquelle
	69	Emissionslichtstrahl
	71	ausgehendes Licht
	73	Spiegel
	75	Filter

### Patentansprüche

1. Scanmikroskop mit einem Beleuchtungsstrahlengang (41), einer Mikroskopoptik (37) und mit mindestens einer Lichtquelle (17, 21, 61, 67), die einen Anregungslichtstrahl (19, 63) einer ersten Wellenlänge und einen Emissionslichtstrahl (23, 69) einer zweiten Wellenlänge erzeugt, wobei der Anregungslichtstrahl (19, 63) auf einen ersten Fokusbereich in einer ersten Ebene und der Emissionslichtstrahl (23, 69) auf einen zweiten Fokusbereich in einer zweiten Ebene in einer Probe (39) fokussiert sind und der Anregungslichtstrahl (19, 63) die Probe (39) im ersten Fokusbereich optisch anregt und der Emissionslichtstrahl (23, 69) im zweiten Fokusbereich stimulierte Emission erzeugt und der erste und der zweite Fokusbereich sich zumindest teilweise überlappen, dadurch gekennzeichnet, dass die optischen Eigenschaften der im Beleuchtungsstrahlengang (41) angeordneten Komponenten derart aufeinander abgestimmt sind, dass optische Aberrationen derart korrigiert sind, dass unabhängig von der Scanbewegung die Fokusbereiche zueinander ortsfest bleiben.
2. Scanmikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Aberrationen chromatische Aberrationen, wie Farblängsfehler, Farbvergrößerungsfehler oder Farbquerfehler, sind.
3. Scanmikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Aberrationen monochromatische Aberrationen, wie sphärische Aberrationen oder Koma oder Astigmatismus, Bildfeldwölbung oder Verzeichnung sind.

4. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass optische Korrekturmittel vorgesehen sind, die nur auf den Anregungslichtstrahl (19, 63) wirken.
5. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass optische Korrekturmittel vorgesehen sind, die nur auf den Emissionslichtstrahl (23, 69) wirken.
6. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass optische Korrekturmittel vorgesehen sind, die auf den Anregungslichtstrahl (19, 63) und auf den Emissionslichtstrahl (23, 69) wirken.
- 10 7. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Korrekturmittel eine Linse (65) beinhaltet.
8. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Korrekturmittel eine Driftstrecke beinhaltet.
9. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Korrekturmittel eine adaptive Optik (53, 57) beinhaltet.
- 15 10. Scanmikroskop nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, dass die adaptive Optik (53, 57) ein LCD-Element, einen Mikrospiegel oder einen deformierbaren Spiegel beinhaltet.

### Zusammenfassung

Das Scanmikroskop umfasst einen Beleuchtungsstrahlengang (41), eine Mikroskopoptik (37) und mit mindestens eine Lichtquelle (17, 21, 61, 67), die einen Anregungslichtstrahl (19, 63) einer ersten Wellenlänge und einen Emissionslichtstrahl (23, 69) einer zweiten Wellenlänge erzeugt. Der erste Fokusbereich und der zweite Fokusbereich überlappen sich teilweise. Die optischen Eigenschaften der im Beleuchtungsstrahlengang (41) angeordneten Komponenten sind derart aufeinander abgestimmt, dass optische Aberrationen derart korrigiert sind, und dass unabhängig von der Scanbewegung die Fokusbereiche zueinander ortsfest bleiben.

Fig. 2





2/3

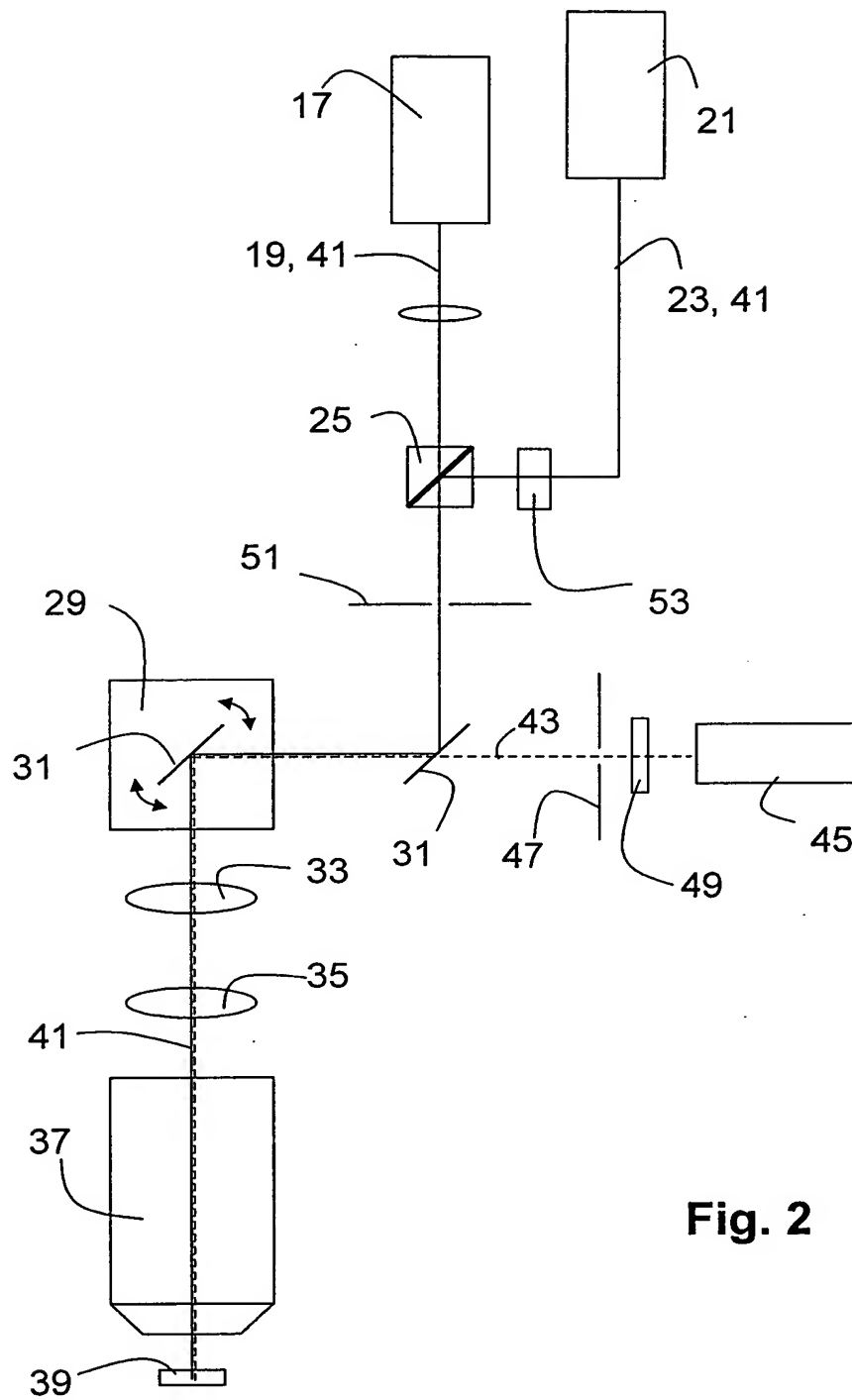


Fig. 2

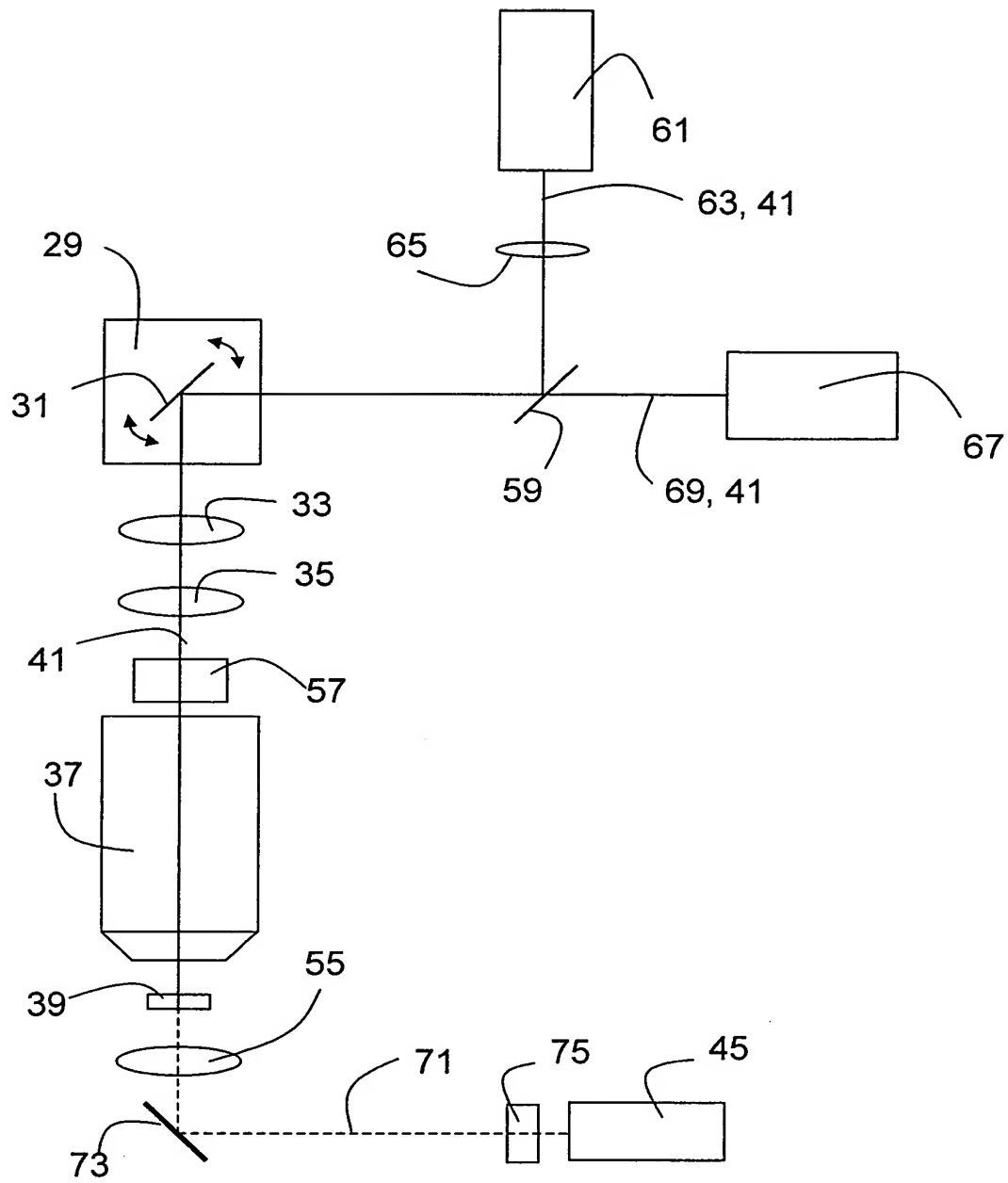


Fig. 3